

УДК 547.466:543.2

ЭКСТРАКЦИЯ ГИСТИДИНА, ПРОЛИНА, МЕТИОНИНА И ИХ СМЕСЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ N-ВИНИЛФОРМАМИДА

© 2021 г. Н. Я. Мокшина^а, О. А. Пахомова^б, К. Б. Ким^в*, С. И. Нифталиев^с

^аВоенно-воздушная академия им. проф. Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина
ул. Старых Большевиков, 54а, Воронеж, 394063 Россия

^бЕлецкий государственный университет им. И.А. Бунина
ул. Коммунаров, 28, Елец, Липецкая обл., 399770 Россия

^сВоронежский государственный университет инженерных технологий
просп. Революции, 19, Воронеж, 394000 Россия

*E-mail: kmkseniya@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.06.2020 г.

После доработки 14.07.2020 г.

Принята к публикации 23.07.2020 г.

Предложены способы экстракционного извлечения водорастворимыми полимерами аминокислот гистидина, метионина, пролина из водных сред с целью их определения методом капиллярного электрофореза. Установлены закономерности межфазного распределения аналитов в водно-солевых экстракционных системах на основе поли-N-винилформамида и его сополимера с N-винилимидазолом и доказана эффективность их применения. На скорость образования двухфазной системы водорастворимый полимер–водно-солевой раствор аминокислоты в значительной степени влияют молекулярная масса и характеристическая вязкость экстрагента. Изучено влияние соотношения объемов водной и органической фаз на эффективность экстракционного извлечения гистидина, метионина, пролина, в том числе при совместном присутствии, рассчитаны количественные характеристики процесса. Гомо- и сополимеры N-винилформамида применены для эффективного извлечения и экстракционного разделения смеси гистидин–метионин. Приведены коэффициенты распределения и степени извлечения аминокислот в системах с поли-N-винилформамидом и его сополимером с N-винилимидазолом в присутствии высаливателя сульфата аммония. Оптимизированы условия электрофоретического определения аминокислот: состав буферного раствора, тип и концентрация мицеллообразователя. Разработанный способ электрофоретического раздельного определения аминокислот с предварительным экстракционным извлечением целевых компонентов водорастворимыми полимерами может быть рекомендован для серийных анализов при определении безопасности пищевых продуктов, энергетических напитков, фармацевтических средств.

Ключевые слова: экстракция, аминокислоты, водорастворимые полимеры, капиллярный электрофорез.

DOI: 10.31857/S0044450221010072

Комплексы аминокислот с витаминами, углеводами и липидами широко применяют при заболеваниях большинства систем организма человека. Эффективность действия таких препаратов основана на анаболическом и антиоксидантном эффекте, стимуляции энергообеспечения и регенерации [1]. Применение свободных аминокислот, в отличие от белка, не требует энергетических затрат на расщепление при всасывании, поэтому уровень свободных аминокислот в крови возрастает быстрее, чем при использовании белка или декстранов [2].

Аминокислоты гистидин, метионин и пролин, различающиеся строением заместителя при α -углеродном атоме, широко применяют в качестве

пищевых добавок, терапевтических средств, промежуточных веществ органического синтеза, в современной медицине – для диагностики, лечения и профилактики многих заболеваний. Известно, что большинство α -аминокислот характеризуется широким спектром биологической активности; они являются исходными веществами при синтезе антител, гормонов, ферментов, других биологически активных соединений [3–5].

Поиск новых, экологически безопасных и эффективных экстракционных систем для концентрирования незаменимых аминокислот предусматривает разработку экспрессных методик их надежного определения в различных средах. Современным требованиям к методам концентри-

С целью выделения самостоятельной органической фазы при экстракции аминокислот применяли высаливатели – насыщенные растворы хлорида или сульфата аммония. Экстрагировали на вибросмесителе в течение 10 мин при $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Для установления межфазного равновесия и полного расслаивания системы экстракционную систему центрифугировали при 10000 об./мин в течение 15 мин. Измеряли соотношение равновесных объемов водной ($V_{\text{в}}$) и органической ($V_{\text{о}}$) фаз ($r = V_{\text{в}}/V_{\text{о}}$). Водно-солевую фазу отделяли от органической и анализировали методом капиллярного электрофореза.

В основе капиллярного электрофореза лежат электромиграция ионов и других заряженных частиц и электроосмос. Эти явления возникают в растворах при помещении их в электрическое поле, преимущественно высокого напряжения. Если раствор находится в тонком капилляре, например, в кварцевом, то электрическое поле, наложенное вдоль капилляра, вызывает в нем движение заряженных частиц и пассивный поток жидкости, в результате чего проба разделяется на индивидуальные компоненты, так как параметры электромиграции специфичны для каждого сорта заряженных частиц. В то же время диффузионные, сорбционные, конвекционные, гравитационные и т.п. возмущающие факторы в капилляре существенно ослаблены, благодаря чему достигаются рекордные эффективности разделений [17–20].

При определении содержаний аминокислот после экстракции в качестве стандартных образцов применяли индивидуальные вещества фирмы “Fluka Chemie GmbH” (Германия). Готовили раствор препарата в дистиллированной воде, к полученному раствору добавляли 7.5 г высаливателя (хлорид аммония) и при тщательном перемешивании доводили раствор до метки (100 мл) дистиллированной водой до расслаивания системы.

Электрофоретический анализ концентрата. В сухую пробирку типа Эппендорф помещали 0.5–1.0 мл экстракта, центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об./мин и анализировали при следующих условиях: ввод пробы при давлении 30 мбар в течение 5 с, длина волны 254 нм, напряжение +25 кВ, 20°C , время ввода пробы 7 мин, фоновый электролит – смесь растворов додецилсульфата натрия и тетрабората натрия. Концентрацию додецилсульфата натрия в составе фонового электролита варьировали от 10 до 20 мг/мл, электрофоретическое разделение осуществляли в мицеллярном режиме. Регистрировали электрофореграммы аминокислот, проверяли правильность автоматической разметки пиков, идентифицировали компоненты.

Для разработки методики электрофоретического определения пролина, метионина и гистидина после экстракции подбирали оптимальный

состав буферного раствора, тип и концентрацию мицеллообразователя, влияющие на разделяющую способность буферного раствора. Для устранения мешающего эффекта матрицы при анализе реальных проб следует применять программируемое переключение длин волн в ходе анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Водорастворимые полимеры – производные винилформамида нашли применение для извлечения и определения соединений разных классов [8, 15]. Ранее нами получены экстракционные характеристики некоторых аминокислот и моноамидов кислот при извлечении гомо- и сополимерами N-винилформамида [7, 21].

В настоящей работе изучено межфазное распределение гистидина, метионина и пролина в экстракционных системах на основе поли-N-винилформамида при использовании различных соотношений объемов равновесных водной и органической фаз, концентраций полимера и высаливателей (табл. 1). Рассчитаны коэффициенты распределения (D) и степени извлечения (R) аналитов [5, 9, 10]. Установлено, что наибольшая степень извлечения аминокислот достигается при использовании в качестве высаливателя сульфата аммония, эффективность действия которого зависит как от природы электролита, так и от свойств распределяемого вещества. Соли влияют на диэлектрическую проницаемость среды, ионную силу раствора, повышают количественные характеристики экстракции (коэффициенты распределения и концентрирования, степени извлечения).

При соотношении объемов фаз $r = 10 : 2$ и концентрации аминокислот в диапазоне 2.2×10^{-4} – 2.5×10^{-4} М степень однократного извлечения гистидина и метионина достигает 94–95%. Пролин извлекается более эффективно при $r = 10 : 4$ и концентрации 5.0×10^{-4} М. Дальнейшее повышение концентрации аминокислот не сопровождается увеличением их степени извлечения, так как в водном растворе полимера образуются ассоциаты, при этом освобождается связанная вода, которая переходит в равновесную водно-солевую фазу [22].

С целью повышения степени извлечения аминокислот в качестве экстрагента применяли сополимер ВФ-ВИ в молярном соотношении 9 : 1 (табл. 2). При тех же концентрациях аминокислот и соотношении объемов фаз, а также при использовании в качестве высаливателя сульфата аммония степень извлечения аминокислот достигает 96–98%.

Введение в систему компонента со звеньями N-винилимидазола приводит к образованию внутримолекулярных связей между ОН-группами ами-

Таблица 1. Экстракционные характеристики аминокислот в системах с поли-N-винилформамидом и высаливателями $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и NH_4Cl ($M_\eta = 25000$, $n = 5$, $P = 0.95$)

Концентрация аминокислоты, М	r	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		NH_4Cl	
		D	$R, \%$	D	$R, \%$
Гистидин					
1.0×10^{-4}	10 : 1	68.7 ± 0.4	87.3	28.5 ± 0.2	74.1
1.5×10^{-4}		70.2 ± 0.3	87.5	31.3 ± 0.2	75.8
2.0×10^{-4}		73.4 ± 0.4	88.0	36.2 ± 0.3	78.4
2.2×10^{-4}	10 : 2	82.5 ± 0.5	94.3	15.3 ± 0.1	79.2
2.5×10^{-4}		85.9 ± 0.5	94.5	16.8 ± 0.1	80.1
3.0×10^{-4}		81.4 ± 0.4	94.2	15.9 ± 0.2	79.8
3.2×10^{-4}	10 : 3	27.8 ± 0.3	87.4	11.3 ± 0.1	73.8
3.5×10^{-4}		34.1 ± 0.4	89.5	12.7 ± 0.1	76.1
4.0×10^{-4}		35.5 ± 0.2	89.8	10.2 ± 0.2	71.8
Метионин					
1.2×10^{-4}	10 : 1	37.7 ± 0.2	79.0	18.2 ± 0.2	66.9
1.8×10^{-4}		40.5 ± 0.3	80.2	22.3 ± 0.3	70.8
2.0×10^{-4}		39.5 ± 0.3	79.8	26.4 ± 0.3	71.9
2.2×10^{-4}	10 : 2	90.5 ± 0.7	95.1	14.1 ± 0.1	89.6
2.5×10^{-4}		84.6 ± 0.6	94.4	14.8 ± 0.1	74.7
2.8×10^{-4}		83.5 ± 0.5	93.2	15.5 ± 0.2	75.6
3.0×10^{-4}	10 : 3	19.4 ± 0.1	86.6	10.3 ± 0.1	72.0
3.2×10^{-4}		24.1 ± 0.1	85.7	11.7 ± 0.1	74.5
3.8×10^{-4}		25.8 ± 0.2	86.6	11.2 ± 0.1	73.6
Пролин					
2.0×10^{-4}	10 : 1	32.5 ± 0.3	76.5	15.3 ± 0.2	60.5
2.5×10^{-4}		37.3 ± 0.3	78.8	16.1 ± 0.1	61.7
3.0×10^{-4}		40.1 ± 0.5	80.1	15.5 ± 0.1	60.8
3.5×10^{-4}	10 : 2	59.6 ± 0.5	85.6	12.8 ± 0.1	71.9
4.0×10^{-4}		62.2 ± 0.6	92.5	13.5 ± 0.2	72.9
4.5×10^{-4}		65.4 ± 0.4	92.7	9.6 ± 0.1	65.8
5.0×10^{-4}	10 : 4	57.8 ± 0.4	93.5	10.7 ± 0.2	72.7
5.5×10^{-4}		55.8 ± 0.5	93.3	10.2 ± 0.1	71.8
6.0×10^{-4}		50.7 ± 0.4	92.7	11.0 ± 0.2	73.3

* Здесь и далее жирным шрифтом выделены наиболее эффективные системы.

нокислот и “пиридиновыми” атомами азота имидазольного цикла, что способствует более сильному сжатию макромолекул и отражается на результатах экстракции [23].

Известно [23, 24], что полимеры на основе N-виниламидов, содержащие поляризованную группу $>C=O$, могут взаимодействовать с протонсодержащими соединениями, в том числе с группами $-COOH$. Под влиянием полярной группы $>C=O$ макроцепи и воды образуются цепочечные ассоциаты. При этом возможно взаимодействие молекул воды как с соединениями с группами $-COOH$ (доноры протонов), так и с веществами, имеющими группу $>C=O$ (акцепторы протонов). Таким образом образуется сетка из водородных связей, что отражается на результатах экстракции.

Аминокислоты после их экстракции из водно-солевых растворов определяли методом капиллярного электрофореза (рис. 1).

Данные по экстракции индивидуальных аминокислот позволили предположить, что применение гомо- и сополимеров N-винилформамида эффективно также для экстракционного разделения смеси этих аминокислот [22]. Количественные характеристики экстракции смеси гистидина и метионина в системах с ПВФ и ВФ-ВИ (высаливатель $(NH_4)_2SO_4$) приведены в табл. 3.

Готовили смеси аминокислот с примерно одинаковыми концентрациями компонентов. Так, при концентрации аминокислот в смеси 2.5×10^{-4} М и соотношении объемов равновесных фаз 10 : 2 достигается максимальное извлечение (около 99%) при использовании в качестве экстрагента сополимера ВФ-ВИ. Лучший результат для систем на основе ПВФ зафиксирован при концентрациях 2.2×10^{-4} М: степень извлечения аминокислот составляет 94–95%.

Экстракционно-электрофоретическое определение аминокислот в фармацевтических препаратах “Гистидин”, “Пролин” и “Метионин” разных производителей с применением ПВФ в качестве экстрагента позволило установить, что заявленное содержание гистидина и пролина (500 и 25 мг соответственно) практически полностью соответствует найденному, а содержание метионина (250 мг) в отдельных случаях занижено.

* * *

Таким образом, рассчитаны экстракционные характеристики гистидина, метионина и пролина после их извлечения из водно-солевых растворов. Установлены параметры наиболее эффективной экстракции: концентрации аминокислот, тип высаливателя, соотношение объемов водной и органической фаз. Разработаны методики извлечения и отдельного электрофоретического определе-

Таблица 2. Экстракционные характеристики аминокислот в системах N-винилформамид–N-винилимидазол (высаливатель $(NH_4)_2SO_4$, $n = 5$, $P = 0.95$)

Концентрация аминокислоты, М	r	D	R , %
Гистидин			
1.0×10^{-4}	10 : 1	84.7 ± 0.2	89.4
1.5×10^{-4}		81.2 ± 0.2	89.0
2.0×10^{-4}		83.9 ± 0.1	89.3
2.2×10^{-4}	10 : 2	89.5 ± 0.2	89.9
2.5×10^{-4}		102.9 ± 0.8	98.5
3.0×10^{-4}		95.5 ± 0.4	90.5
3.2×10^{-4}	10 : 3	37.8 ± 0.1	90.4
3.5×10^{-4}		44.3 ± 0.3	91.7
4.0×10^{-4}		45.5 ± 0.2	91.9
Метионин			
1.2×10^{-4}	10 : 1	54.7 ± 0.4	84.5
1.8×10^{-4}		61.2 ± 0.5	85.6
2.0×10^{-4}		65.4 ± 0.4	86.7
2.2×10^{-4}	10 : 2	67.5 ± 0.6	92.1
2.5×10^{-4}		63.1 ± 0.5	91.3
2.8×10^{-4}		65.6 ± 0.4	92.8
3.0×10^{-4}	10 : 3	97.7 ± 0.7	97.1
3.2×10^{-4}		95.6 ± 0.6	96.9
3.8×10^{-4}		96.4 ± 0.7	97.0
Пролин			
2.0×10^{-4}	10 : 1	22.4 ± 0.1	69.1
2.5×10^{-4}		27.6 ± 0.2	73.4
3.0×10^{-4}		32.2 ± 0.1	76.3
3.5×10^{-4}	10 : 2	49.5 ± 0.3	90.8
4.0×10^{-4}		52.6 ± 0.1	91.3
4.5×10^{-4}		55.1 ± 0.2	91.7
5.0×10^{-4}	10 : 4	67.3 ± 0.4	95.7
5.5×10^{-4}		75.4 ± 0.5	96.2
6.0×10^{-4}		68.7 ± 0.5	95.8

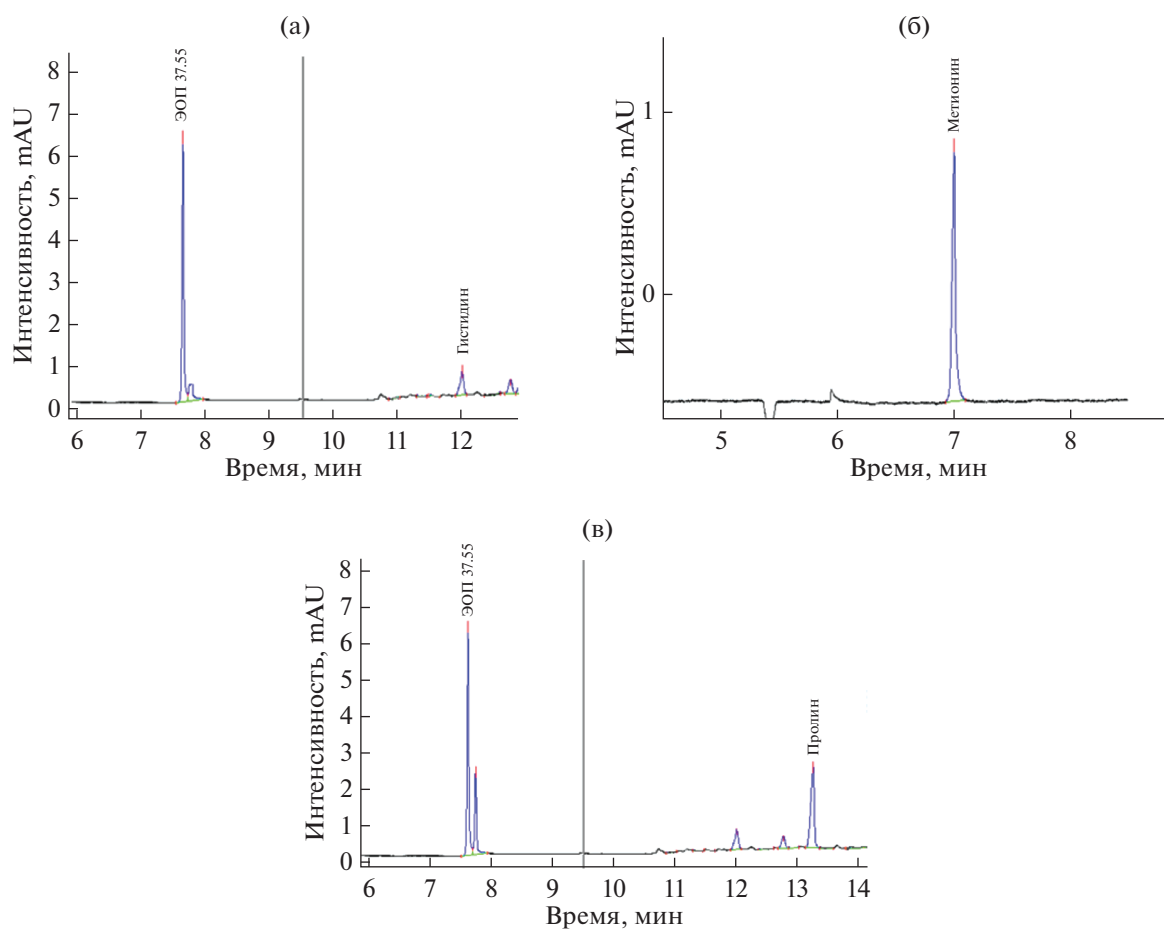


Рис. 1. Электрофореграммы гистидина (а), метионина (б) и пролина (в).

Таблица 3. Количественные характеристики экстракции смеси аминокислот

Концентрации аминокислот в смеси, М		<i>r</i>	<i>D</i>		<i>R</i> , %	
гистидин	метионин		гистидин	метионин	гистидин	метионин
ПВФ						
2.2×10^{-4}	2.2×10^{-4}	10 : 1	34.2 ± 0.2	16.1 ± 0.1	77.4	61.7
2.5×10^{-4}	2.5×10^{-4}		43.2 ± 0.3	23.4 ± 0.2	81.2	70.1
3.0×10^{-4}	2.8×10^{-4}		54.5 ± 0.4	32.8 ± 0.2	84.5	76.6
2.2×10^{-4}	2.2×10^{-4}	10 : 2	82.5 ± 0.5	90.5 ± 0.7	94.3	95.1
2.5×10^{-4}	2.5×10^{-4}		85.9 ± 0.5	84.6 ± 0.6	94.5	94.4
3.0×10^{-4}	2.8×10^{-4}		81.4 ± 0.4	83.5 ± 0.5	94.2	93.2
ВФ-ВИ						
2.2×10^{-4}	2.2×10^{-4}	10 : 1	21.3 ± 0.1	29.1 ± 0.2	68.1	74.4
2.5×10^{-4}	2.5×10^{-4}		25.7 ± 0.2	33.5 ± 0.3	71.9	77.1
3.0×10^{-4}	2.8×10^{-4}		35.4 ± 0.2	45.8 ± 0.4	77.8	82.1
2.2×10^{-4}	2.2×10^{-4}	10 : 2	89.5 ± 0.2	90.5 ± 0.5	89.9	94.8
2.5×10^{-4}	2.5×10^{-4}		102.9 ± 0.8	113.5 ± 0.8	98.5	98.9
3.0×10^{-4}	2.8×10^{-4}		95.5 ± 0.4	87.3 ± 0.4	90.5	82.4

ния аминокислот, в том числе в их смесях и фармацевтических препаратах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Selemenev V.F., Chikin G.A., Khokhlov V.Yu.* Interionic and intermolecular interactions in ion-exchange and sorption systems involving physiologically active substances // *Solvent Extr. Ion Exch.* 2000. № 1. P. 615.
2. *Kenji Imura, Akira Okada.* Amino acid metabolism in pediatric patients // *Nutrition.* 1998. V. 4. № 1. P. 143.
3. *Barret G.C.* Chemistry and Biochemistry of the Amino-acids. N.Y.: VCH, 1985. 347 p.
4. *Turner E.H., Loftis J.M., Blackwell A.D.* Serotonin a la carte: Supplementation with the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan // *Pharmacol. Ther.* 2006. V. 109. № 3. P. 325.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.06.004>
5. *Шкинев В.М., Мокшина Н.Я., Хохлов В.Ю., Спиваков Б.Я.* Экстракция биологически активных веществ в двухфазных водных системах на основе поли-N-винилпирролидона // Доклады АН. 2013. Т. 448. № 4. С. 427. (*Shkinev V.M., Mokshina N.Ya., Khokhlov V.Yu., Spivakov B.Ya.* Extraction of biologically active substances in two-phase aqueous systems based on poly-N-vinylpyrrolidone // *Doklady Chemistry.* 2013. V. 448. № 2. P. 49.
<https://doi.org/10.1134/S0012500813020055>
<https://doi.org/10.7868/S0869565213040166>
6. *Raiva A.P.* Solvent extraction associated with activation analysis: A helpful tool // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2004. V. 319. № 1. P. 135.
7. *Коренман Я.И., Зыков А.В., Мокшина Н.Я., Быковский Д.В., Шаталов Г.В.* Закономерности экстракции витаминов группы В синтетическими водорастворимыми полимерами // Журн. физ. химии. 2011. Т. 85. № 11. С. 2142. (*Korenman Ya.I., Zikov A.V., Mokshina N.Ya., Bykovskiy D.V., Shatalov G.V.* Regularities of the extraction of b vitamins, synthetic water-soluble polymers // *Russ. J. Phys. Chem.* 2011. V. 85. № 11. P. 2000.)
<https://doi.org/10.1134/S0036024411110185>
8. *Mokshina N.Ya., Bykovskiy D.V., Pakhomova O.A., Shatalov G.V.* Application of water-soluble polymers for extraction separation of amino acids of various structures // *Am. J. Appl. Sci.* 2015. № 12. P. 1032.
<https://doi.org/10.3844/ajassp.2015.1032.1041>
9. *Мокшина Н.Я., Пахомова О.А., Шаталов Г.В., Косинова И.И.* Межфазное распределение некоторых аминокислот в экстракционных системах на основе сополимеров N-винилформамида // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2019. Т. 62. № 1. С. 4. (*Mokshina N.Ya., Pakhomova O.A., Shatalov G.V., Kosinova I.I.* Interphase distribution of some amino acids in extraction systems based on N-vinylformamide copolymers // *Izv.Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2019. V. 62. № 1. P. 4.)
<https://doi.org/10.6060/ivkkt.20196201.5763>
10. *Мокшина Н.Я., Пахомова О.А., Шаталов Г.В., Лавлинская М.С.* Экстракционно-электрофоретическое определение ванилина в водных растворах и энергетических напитках с применением полимеров на основе N-винилформамида // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2017. Т. 60. № 8. С. 13. (*Mokshina N.Ya., Pakhomova O.A., Shatalov G.V., Lavlinskaya M.S.* Extraction-electrophoretic determination of vanillin in aqueous solutions and the energy drinks with the use of polymers on the basis of the N-vinylformamide // *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2017. V. 60. № 8. P. 13.)
<https://doi.org/10.6060/ivkkt.20196201.5763>
11. *Molochnikova N.P., Shkinev V.M., Myasoedov B.F.* Two-phase aqueous systems based on poly(ethylene glycol) (PEG) for extraction separation of actinides in various media // *Solv. Extr. Ion Exch.* 1992. V. 10. № 4. P. 697.
12. *Шаталов Г.В., Лавлинская М.С., Пахомова О.А., Мокшина Н.Я., Кузнецов В.А.* Сополимеры N-винилкапролактама с 1-винил- и 1-метакрилоил-3,5-диметилпиразолом в качестве сорбентов незаменимых α -аминокислот в жидко- и твердофазной экстракции // Журн. прикл. химии. 2016. Т. 89. № 1. С. 112. (*Shatalov G.V., Luvlinskaya M.S., Kuznetsov V.A., Pakhomova O.A., Mokshina N.Ya.* Copolymers of N-vinylcaprolactam with 1-vinyl- and 1-metakilol-3,5-dimethylpyrazole as sorbents essential α -amino acids in liquid- and solid-phase extraction // *Russ. J. Appl. Chem.* 2016. V. 89. № 1. P. 140.)
<https://doi.org/10.1134/S1070427216010225>
13. *Панарин Е.Ф., Лавров Н.А., Соловский М.В., Шальнова Л.И.* Полимеры – носители биологически активных веществ. СПб: Профессия, 2014. 304 с.
14. *Kuznetsov V.A., Lavlinskaya M.S., Ostankova I.V., Shatalov G.V., Shikhaliev Kh.S., Ryzhkova E.A.* Synthesis of N-vinylformamide and 1-vinyl-(1-methacryloyl)-3,5-dimethylpyrazole copolymers and their extraction ability in relation to histidine in water-salt media // *Polymer Bulletin.* 2018. V. 75. № 3. P. 1237.
<https://doi.org/10.1007/s00289-017-2091-2>
15. *Sreedhar I., Jain G., Srinivas P., Reddy K.S.K.* Polymer induced turbulent drag reduction using pressure and gravity-driven methods // *Korean J. Chem. Eng.* 2014. № 31. P. 568.
16. *Коренман Я.И., Чибисова Т.В., Пахомова О.А.* Коэффициенты распределения новокаина в системах алифатический спирт (C_3-C_9)–сольвотропный реагент–высаливатель–вода // Журн. физ. химии. 2013. Т. 87. № 7. С. 1239. (*Korenman Ya.I., Chibisova T.V., Pakhomova O.A.* Distribution coefficients for novocaine in aliphatic alcohol (C_3-C_9)-solvotropic reagent-salting-out reagent-water systems // *Russ. J. Phys. Chem.* 2013. № 7. P. 1218.
<https://doi.org/10.1134/S0036024413070170>
<https://doi.org/10.7868/S0044453713070182>
17. *Acunha T., Ibáñez C., García-Canas V., Simo C., Cifuentes A.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and Foodomics // *J. Electrophor.* 2016. V. 37. № 1. P. 111.
<https://doi.org/10.1002/elps.201500291>
18. *Карцова Л.А., Бессонова Е.А.* Методы концентрирования в капиллярном электрофорезе // Журн. аналит. химии. 2009. Т. 64. № 4. С. 340. (*Kartsova L.A., Bessonova E.A.* Preconcentration techniques in capillary electrophoresis // *J. Analyt. Chem.* 2009. V. 64. № 4. P. 326.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934809040029>

19. *Poboży E., Czarkowska W., Trojanowicz M.* Determination of amino acids in saliva using capillary electrophoresis with fluorimetric detection // *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2006. V. 67. № 1. P. 37.
20. *Prata C., Bonnafous P., Fraysse N., Treilhou M., Poinot V., Couderc F.* Recent advances in amino acids analysis by capillary electrophoresis // *Electrophoresis.* 2001. V. 22. P. 4129.
21. *Быковский Д.В., Мокшина Н.Я., Кузнецов В.А., Поляркова Т.Н., Шаталов Г.В.* Экстракция метионина в двухфазных водно-солевых системах с циклическими поли-N-виниламидами // *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2014. Т. 57. № 7. С. 73. (*Bykovskiy D.V., Shatalov G.V., Mokshina N.Ya., Kuznetsov V.A., Poyarkova T.N.* Extraction of methionine in two-phase water-salt systems with cyclic poly-N-vinylamid // *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2014. Т. 57. № 7. P. 73.)
22. *Мокшина Н.Я., Быковский Д.В., Пахомова О.А., Шаталов Г.В.* Разделение бинарных смесей гистидина, пролина и метионина в экстракционных системах на основе водорастворимых полимеров винилового ряда // *Журн. аналит. химии.* 2016. Т. 71. № 2. С. 208. (*Mokshina N.Ya., Bykovskiy D.V., Shatalov G.V., Pakhomova O.A.* Separation of binary mixtures of histidine, proline and methionine in the extraction systems based on water-soluble polymers of the vinyl series // *J. Analyt. Chem.* 2016. V. 71. № 2. P. 201. <https://doi.org/10.1134/S1061934816020106> <https://doi.org/10.7868/S0044450216020110>
23. *Нестерова Н.А., Гаврилова И.И., Панарин Е.Ф.* Радиальная сополимеризация N-винилформамида с ненасыщенными карбоновыми кислотами // *Журн. прикл. химии.* 2009. Т. 82. № 4. С. 624. (*Nesterova N.A., Gavrilova I.I., Panarin E.F.* Radical copolymerization of N-vinylformamide with unsaturated carboxylic acids // *Russ. J. Appl. Chem.* 2009. V. 82. № 4. P. 618.) <https://doi.org/10.1134/S1070427209040168>
24. *Шевченко Н.Н., Панкова Г.А., Евсеева Т.Г., Шабсельс Б.М., Байгильдин В.А., Меньшикова А.Ю.* Особенности эмульсионной сополимеризации стирола с N-винилформамидом и диметакрилатом этиленгликоля и характеристики образующихся частиц // *Высокомолекулярные соединения.* 2014. Т. 56. № 2. С. 144. (*Shevchenko N.N., Pankova G.A., Evseeva T.G., Shabsel's B.M., Baigil'Din V.A., Men'Shikova A.Y.* Copolymerization of styrene with N-vinylformamide and ethylene glycol dimethacrylate and characteristics of the formed particles // *Polym. Sci. Series B.* 2014. V. 56. № 2. P. 132.) <https://doi.org/10.1134/S1560090414020146>